

РОЛЬ МОНООКСИДА АЗОТА В РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КАЛЬЦИЙАКТИВИРУЕМЫХ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ

*Майорова С.С., Лазуко С.С., Солодков А.П., Карусевич А.А.
УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»*

Введение. Сосудистый тонус и, следовательно, кровяное давление определяется сокращением гладкомышечных клеток сосудов, которое регулируется внутриклеточной концентрацией кальция. Вазоконстрикторы действуют через увеличение внутриклеточного кальция, тогда как вазодилататоры имеют противоположный эффект. Увеличение эндотелиального кальция вызывает расслабление смежных гладкомышечных клеток сосудов. Поэтому, поступление кальция в клетки необходимо для регулирования кровоснабжения органов и тканей.

Главные проводящие пути для увеличения количества миоцитарного кальция - это потенциалзависимые кальциевые каналы. Количество общего кальция регулируется главным образом L-типом потенциалзависимых кальциевых каналов, которые регулируются мембранным потенциалом. Активность различных ионных каналов в плазматической мембране, таких как калиевые каналы, регулируется мембранным потенциалом и поэтому затрагивает активность потенциалзависимых кальциевых каналов и поступление кальция. Открытие калиевых каналов и кальцийактивируемых калиевых каналов большой проводимости приводит к гиперполяризации мембраны и закрытию потенциалзависимых кальциевых каналов[1].

Кальцийактивируемые калиевые каналы большой проводимости были обнаружены в различных клетках: мышечных, нервных, эндокринных. Они играют ключевую роль в регуляции миогенного тонуса сосудов. Их роль заключается в регуляции продолжительности потенциала действия и расслаблении гладкомышечных клеток[2]. Гиперполяризация мембраны эндотелиоцита, возникающая после открытия калиевых каналов, приводит к поступлению ионов кальция внутрь клетки и высвобождению вазодилаторных субстанций. В тоже время, увеличение проницаемости калиевых каналов, находящихся в мембране гладкомышечной клетки, сопровождается уменьшением поступления в нее кальция. Это противоречие связано с тем, что в мембранах гладкомышечных клеток и эндотелиоцитов экспрессируются различные по свойствам кальциевые каналы. В

эндотелиальных клетках преимущественно находятся нечувствительные к изменению мембранного потенциала кальциевые каналы. Вызываемая выходом калия гиперполяризация мембран эндотелиоцитов приводит к увеличению электрического градиента, благодаря которому ионы Ca^{2+} через катионные каналы входят в клетку. Следовательно, в цитоплазме эндотелиоцита увеличивается концентрация Ca^{2+} , активируется синтез и высвобождение вазодилаторных метаболитов. В тоже время гиперполяризация мембраны гладкомышечной клетки, вызванная увеличением проницаемости калиевых каналов, сопровождается закрытием потенциалзависимых Ca^{2+} каналов и развитием вазодилатации.

Таким образом, благодаря экспрессии различных типов кальциевых каналов гиперполяризация эндотелиоцитов увеличивает вход Ca^{2+} внутрь клетки и активирует синтез и высвобождение вазодилаторных субстанций, а в гладкомышечных клетках – наоборот, уменьшает вход Ca^{2+} , что также приводит к расслаблению гладкой мышцы и расширению сосуда.

Калиевые каналы представляют интерес, так как они являются универсальными регуляторами клеточной функции. В гладкомышечных клетках сосудов кальцийактивируемые калиевые каналы играют центральную роль в регулировании кровяного давления. Нарушение экспрессии гена $\beta 1$ - субъединицы кальцийактивируемых калиевых каналов приводит к увеличению сосудистого тонуса и артериальной гипертензии, сопровождаемой гипертрофией левого желудочка[1].

Цель. Выяснить изменение тонуса сосудов сердца и сократительной функции миокарда, вызываемое ТЭА в условиях нормального и подавленного синтеза монооксида азота.

Материалы и методы. Коронарный поток и сократительную функцию миокарда изучали на препаратах изолированного сердца крыс – самок, перфузируемых в условиях постоянного давления. Перфузию проводили раствором Кребса - Хензеляйта насыщенным карбогеном при температуре 37°C . Величину объемной скорости коронарного потока определяли при помощи электромагнитного флоуметра EFM (HSE Harvard apparatus, Германия), датчик которого находился вблизи аортальной канюли.

Каждый опыт состоял из двух этапов. На первом этапе сердце перфузировали раствором Кребса - Хензеляйта, на втором – этим же раствором, но с добавлением тетраэтиламмония (1 мМ). Для выяснения роли монооксида азота в реализации эффекта тетраэтиламмония

использовали блокатор монооксида азота – метиловый эфир N-ω-нитро-L-аргинина (60 мкМ, L-NAME).

В ходе опыта перфузионное давление ступенчато повышали от 40 до 120 мм рт. ст. с шагом в 20 мм рт. ст. (коронарная ауторегуляция).

С целью определения сократительной функции миокарда в полость левого желудочка вводили латексный баллончик постоянного объема. Давление в латексном баллончике регистрировали с помощью датчика Isotec электроманометра HSE Harvard apparatus (Германия) на самописце WeKagraph (Швейцария).

Концентрация тетраэтиламмония (ТЭА) была выбрана 1Мм, так как при этой концентрации он блокирует кальцийактивируемые калиевые каналы эндотелия и гладкомышечных клеток сосудов. Цифровой материал обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента и программы "Statistica 6.0".

Результаты и обсуждения. В изолированных сердцах крыс, перфузируемых раствором Кребса-Хензелята, содержащим тетраэтиламмоний по сравнению с контрольной группой животных наблюдалось снижение объемной скорости коронарного потока при перфузионном давлении 80-120 мм рт.ст. в среднем на 23% ($p<0,05$). При этом увеличивался индекс ауторегуляции при перфузионном давлении от 60 до 80 на 88% и от 100 до 120 мм рт. ст. на 34%. После блокады тетраэтиламмонием K_{Ca} -каналов максимальный гиперемический коронарный поток, определяемый при перфузионном давлении 80 и 120 мм рт.ст., снизился на 21-15% соответственно ($p<0,05$). Однако в связи с тем, что одновременно уменьшалась базальная объемная скорость коронарного потока при этих же уровнях перфузионного давления коронарный расширительный резерв достоверно не изменялся. Блокатор кальцийактивируемых калиевых каналов не оказывал влияния на сократительную функцию миокарда и интенсивность перфузии.

Таким образом, во-первых, эффект тетраэтиламмония проявляется только в области ауторегуляции коронарного потока, что свидетельствует об отсутствии базальной активности K_{Ca} каналов, и их активации, только при выраженной констрикции гладкомышечных клеток, вызванной растяжением коронарных сосудов увеличивающимся перфузионным давлением; во-вторых, влияние тетраэтиламмония в дозе 1 мМ распространялся только на тонус сердца и не сказывался на величине сократительной функции миокарда.

Внутрикоронарное введение тетраэтиламмония на фоне блокады синтеза монооксида азота, сопровождалось снижением ОСКП при

всех уровнях перфузионного давления в среднем на 34% (в условиях интактного синтеза NO при перфузионном давлении от 80 до 120 мм рт.ст. на 23%) ($p < 0,05$ при перфузионном давлении от 40 до 80 мм рт.ст.). При этом, так же как и с интактной системой NO увеличивался индекс ауторегуляции при 40-60, 60-80, 80-100 мм рт.ст. на 28%, 43% и 16% соответственно. После блокады тетраэтиламмонием K_{Ca} -каналов и блокады синтеза монооксида азота, максимальный гиперемический коронарный поток, определяемый при перфузионном давлении 80 и 120 мм рт.ст., снизился на 26%-27% (для сравнения в присутствии базального NO на 22-17%) ($p > 0,05$).

Под влиянием тетраэтиламмония и L-NAME развиваемое внутрижелудочковое давление снижалось в среднем на 15%, в то время как ТЭА в условиях интактной системы NO на развиваемое внутрижелудочковое давление никакого влияния не оказывал. Интенсивность перфузии как в контроле не изменялась.

Снижение объемной скорости коронарного потока и значительное увеличение индекса ауторегуляции, наблюдаемое после блокады кальцийактивируемых калиевых каналов, свидетельствовало о повышении тонуса сосудов сердца, а степень изменения этих показателей под влиянием тетраэтиламмония выявляла их функциональное значение.

Таким образом, в виде K_{Ca} каналов большой проводимости сами гладкомышечные клетки обладают способностью противодействовать увеличению их сократительной активности. Очевидно, что наиболее значимым в регуляции миогенного тонуса сосудов в области ауторегуляции, в том числе и коронарных, являются кальцийактивируемые калиевые каналы.

В условиях блокады монооксида азота наблюдалось более выраженное действие ТЭА на сократительную активность гладкомышечных клеток коронарных сосудов, что можно расценить как усиление функциональной активности кальцийактивируемых калиевых каналов при данном состоянии.

Выводы.

1. K_{Ca} - каналы большой проводимости представляют собой одну из систем, расположенных в мембране гладкомышечных клеток и противодействующих увеличению их сократительной активности;

2. Блокада монооксида азота вызывает усиление функциональной активности кальцийактивируемых калиевых каналов.

Литература:

1. Calcium-Activated Potassium Channels and the Regulation of Vascular Tone /J Ledoux [et al.] // Physiology-2006. - Vol. 21.- N. 1.-P. 69-78
2. Ion channels in vascular endothelium / B. Nilius [et al.] // Annu. Rev. Physiol. - 1997a. – Vol.59. – P.145–170